

## ⑫ 公開特許公報 (A) 平3-257366

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>

G 01 N	33/49
A 61 B	5/14
A 61 M	1/14
G 01 N	33/483
	33/49

識別記号

3 1 0
3 5 3
E
Z

府内整理番号

X	7055-2J
	7831-4C
	7720-4C
E	7055-2J
Z	7055-2J

⑭ 公開 平成3年(1991)11月15日

審査請求 未請求 請求項の数 23(全12頁)

⑮ 発明の名称 血液回路及びこれを用いた血液測定装置及び血液測定方法

⑯ 特 願 平2-55037

⑰ 出 願 平2(1990)3月8日

⑱ 発明者 菊池 佑二 滋賀県つくば市竹園3丁目108-402

⑲ 出願人 菊池 佑二 滋賀県つくば市竹園3丁目108-402

⑳ 代理人 弁理士 高木 千嘉 外2名

## 明細書

## 1. 発明の名称

血液回路及びこれを用いた血液測定装置  
及び血液測定方法

## 2. 特許請求の範囲

(1) 一端部に流入口を有し、他端部に出口を有する管を複数個並列配置し、かつこの管を相互に区画する壁部に、前記流入口と出口とは結ぶ直線に対しほぼ直交する方向において、管を相互に連通する微小な溝を有してなる第1の基板と上記第1の基板の表面に接合ないし圧着される平面を有する第2の基板とからなり、上記第1の基板と第2の基板の接合部ないし圧着部に上記溝および溝によって形成される空間を流路として有することを特徴とする血液回路。

(2) 前記溝の幅、深さあるいは形状のいずれかあるいは全てを赤血球、白血球あるいは血小板のいずれかの大きさと形状に合わせることにより、この溝により形成される流路の各血球に対する通過抵抗を異ならしめる、若しくはこの溝により形

成される流路を通過できる血球を限定することを特徴とする請求項1記載の血液回路。

(3) 赤血球、白血球および血小板のいずれかの大きさと形状に合わせた溝が複数種配置されているものである請求項1又は2記載の血液回路。

(4) 赤血球、白血球および血小板にそれぞれ適合した3種類の溝が配置されているものである請求項3記載の血液回路。

(5) 並列配置された複数個の溝およびこの溝を相互に区画する壁部に形成された微小な溝よりもなる組合せが複数形成されており、各組合せにおける溝はそれぞれ異なる血液有形成分に適合したものとされているものである請求項1ないし4のいずれかに記載の血液回路。

(6) 溝内には狭隘部が多段に設けられていることを特徴とする請求項1ないし5のいずれかに記載の血液回路。

(7) 上記第2の基板が透明であることを特徴とする請求項1ないし6のいずれかに記載の血液回路。

(8) 上記第1の基板がシリコン単結晶からなることを特徴とする請求項1ないし7のいずれかに記載の血液回路。

(9) 請求項1ないし8のいずれかに記載の血液回路の1つの端みの流入口に血液試料注入装置を接続し、この端みと並列配置された端みの流入口に生理食塩水注入装置を接続し、さらに各端みの流入口近傍、流出口近傍あるいはその両方に制御装置を有する圧力発生源を設けたことを特徴とする血液測定装置。

(10) 並列配置された端み間を通過する流により形成される流路部に光を照射する光学系と、該流路部における光の変量を測定する計測系とを有するものである請求項9記載の血液測定装置。

(11) 前記計測系は、流路部からの反射光を測定するものである請求項10記載の血液測定装置。

(12) 前記計測系は、流路部からの螢光を測定するものである請求項9ないし11のいずれかに記載の血液測定装置。

(13) 血液試料注入装置と接続された端みの流

- 3 -

(17) 請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、血液回路の並列する端みの間に静水圧差を設けることにより、上記並列する端みの間を駆ぐ流により形成される流路に血液の流れを起らしめ、その後の各端みでの血液の各有形成分の数の増減あるいは血液の各有形成分による溝流路の閉塞状況を測定し、それにより血液各有形成分の流れ特性あるいは活性度を求ることを特徴とする血液測定方法。

(18) 請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、血液回路の並列する端みの間に設けた生理活性物質の濃度差の下に、並列する端みの間を駆ぐ流により形成される流路各部分を移動する白血球の種類、数、移動の速度のいずれかあるいは全てを測定し、それにより白血球各分画の遊走能を求ることを特徴とする血液測定方法。

(19) 請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、血液回路の並列する端みの間に生理活性物質の濃度差を

設けることにより、上記並列する端みの間を駆ぐ流により形成される流路を介して白血球の移動を起らしめ、その後の各端みでの白血球各分画の数の増減あるいは白血球による溝流路の閉塞状況を測定し、それにより白血球各分画の遊走能、粘着能を求ることを特徴とする血液測定方法。

(20) 請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、請求項16ないし19のいずれかに記載の血液測定装置を、生理活性物質に暴露後の血液試料に対して行なうことを特徴とする血液測定方法。

(21) 請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、請求項16ないし20のいずれかに記載の血液測定装置を、並列配置された端みおよびこの端み相互を区画する隔壁に形成された微小な溝よりなる各組合せ毎にその間の圧力較差を異ならしめ、それにより上記各組合せの間の回路を流れる血液有形成分の配分を異ならしめて行なうことを特徴とする血液測定方法。

- 5 -

- 6 -

(22)請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、請求項16ないし21のいずれかに記載の血液測定を、生理活性物質を回路に流しながら行なうことを特徴とする血液測定方法。

(23)請求項1ないし15のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、回路の一部あるいは全てを交換可能にすることを特徴とする血液回路あるいは血液測定装置。

### 3. 発明の詳細な説明

#### (産業上の利用分野)

本発明は血液回路、並びにこれを用いた血液測定装置および測定方法に関するものである。

#### (既来の技術)

血液中の有形成分である赤血球、白血球、血小板の機能を測定、評価することは、健康管理、疾患の診断と治療に極めて重要である。そこで、從来、赤血球変形能を測定する目的でニューカクリボア [Nuclepore] フィルター、ニッケルメッシュフィルター等の微小な孔を持った膜に対する血液

— 7 —

一を開発し、かつ、それを用いた赤血球変形能測定装置を開発することにより、孔の径、形状が不均一である、孔に入る際の赤血球の向きが一様でない、変形過程を観察できない、指標の意味が明確でない等の從来の赤血球変形能測定法の諸問題を大幅に解決した(特許昭63-283687号)。

更に、本発明者らが発明したこの血液フィルターを用いた装置では、個々の赤血球の滑通速度を直接計測し、指標としているため、結果自身が目詰まりの影響を受けることはない、しかしながら、依然として目詰まりそのものを防ぐことはできていない。そのため、フィルターの使用回数が制限され、装置実用化の上で大きな障害となっている。

また、從来、他種の血球の干渉を防ぐ目的で、血液試料から單一種類の血球分画だけを分離して測定することが行なわれてきたが、斬新な方法は多大な手間を要するだけでなく、その他の血球の変性あるいは分離処理による変性を防ぐことができず、そのため、結果の生理学的あるいは診断学

の適應能が調べられてきた。また、血小板凝集能の測定には凝集に伴う血小板浮遊液の濃度の変化を測定する方法が行なわれてきた。また、白血球活性度の測定には、白血球活性のいくつかの側面に対応して、ボイデン [Boyden] チャンバー法、粒子貪食試験、化学発光測定法等が行なわれてきた。この白血球活性度は感染症、免疫療法、免疫抑制療法等において特に重要である。

#### (発明が解決しようとする課題)

しかしながら、上記測定法はいずれも効率の悪さ、再現性の低さ、定量性の低さ等の問題を持っており、重要度に相応しい有効な測定法とは成り得ていない。また、從来の血小板凝集能測定法は試料調整に手間がかかり、感度も十分なものでない。更に、赤血球変形能測定の上記從来技術は、孔あるいは溝が計測中に血液試料中の有形成分により閉塞されてしまうことで、信頼性を欠くものであった。

一方、本発明者らは、先にシリコン基板上に加工した緻細な溝から構成される新型血液フィルタ

— 8 —

的価値を低下せしめるものであった。

また、静水圧差による血球の受動的な運動と生理活性物質刺激による血球の能動的運動を完全に分離して測定すること、更に、血球に対する機械的ストレスの影響は研究及び臨床に重要であると考えられるが、現在この種の問題を定量的に研究し得る方法はない。上記の本発明者らが発明した装置では、フィルターを多段にすることにより、このような研究を可能にしているが、個々の血球細胞に対する機械的ストレスの影響を追跡測定するところまではできていない。

また、これまで、流れがネットワークを構成した際の各血球の流れの状況を測定、研究する有効な手段がなかった。

したがって、本発明は次に列举する課題を解決する新規な血液回路、並びにこれを用いた血液測定装置および測定方法を提供することを目的とするものである。

- 1) 赤血球活性度を有効に定量化し測定すること、
- 2) 血小板凝集能の測定を從来技術に比べてより

— 9 —

— 10 —

簡便かつ高感度に行なうこと。

3) 赤血球変形能の測定に際しては、血液試料中の有形成分による孔あるいは溝の閉塞を防ぎ、それにより測定の信頼性を高めること。

4) 血液試料から各血球分画を分離しない状態でも、赤血球変形能、白血球活性度、血小板凝聚能の計測を可能ならしめること。

5) 上記4の測定にあたり他種の血球の干渉を最小にすること。

6) 生理活性物質のみの作用による特定の血球細胞の遊走も測定し得ること。

7) 機械的ストレスによる各血球細胞の上記機能特性の変化を追跡測定すること。

8) 流路網において各血球細胞の流れの分布を測定すること。

#### (課題を解決するための手段)

かかる目的を達成するため、本発明は血液試料の全てが微絶溝を通過する従来の方式に代えて、大きな流路に対し略直交方向に微細な溝を形成することで、血液試料の一部のみを大きな流路から

- 11 -

の分離等の相反応を統合したものであり、しかも、いずれの反応にも細胞内の取締蛋白質の取締、運動が関与している。一方白血球の溝閉塞を含めた能動的あるいは受動的溝通過能は細胞内の取締蛋白質の取締、運動状態によって著しく変化する。従って、白血球の能動的あるいは受動的溝通過能あるいは溝閉塞は白血球の活性度の適切な指標となる。血小板の凝聚も同様に細胞内の取締蛋白質の取締、運動が大半の反応であり、従って、血小板の溝通過能あるいは血小板凝聚塊による溝閉塞がここでも良い指標となる。また、白血球、血小板に対しては、一定量の生細活性物質で刺激した後の溝閉塞を含めた溝通過能の変化量を指標とすることもできる。

血液試料を大きな流路に対し略直交方向に設けられた微細な溝路網に流す本方式では、試料の大部分を大きな流路に沿って流し、該血液試料のごく一部のみを微細な溝に導くことが可能である。そのため、例えば赤血球に合せた形状の入口を有する微細な溝の場合、白血球あるいは赤血球より

微細な溝に導く方式を採用し、併せて半導体機器加工技術を応用することにより基板上に赤血球、白血球ないし血小板の形状にそれぞれ適合した種々の形状、大きさの微細な溝を高精度に作成したものである。血液試料の一部のみでもそこに含まれる血球細胞の数は極めて多数であり、十分の個数の血球について測定することができるものである。

尚、このように血液試料を大きな流路から微細な溝に導くには該溝の入口面と出口面、即ち血液試料を流す大きな流路となる部と、この流路と平行しかつ前記溝によってこの流路と連通される別の流路（この別の流路には通常生理食塩水等の生理的に不活性液体が流される。）となる部との間に静水圧差あるいは生理活性物質の濃度差を生じさせればよい。

また、更に本発明においては上記溝内に隔壁部を多段に設けることも示される。

#### (作用)

白血球の活性は、遊走、食作用、生理活性物質

- 12 -

大きい有形成分例ええば血球の凝聚塊が入口近傍にきても該溝内に入ることはできず、血液試料の主流に押し流されて溝入口から遠ざかって行くことになる。このようにして白血球あるいは赤血球より大きい有形成分が該溝を閉塞することが防がれる。その際、赤血球に比べて小さい血小板の流入は防ぎ得ないが、血小板が赤血球の通過を障害することはない。同様に、白血球に合せた形状の入口を有する溝の場合、赤血球、血小板は自由に通過するが、白血球の通過に影響を及ぼすことはない。また、螢光物質で各血球細胞若しくは液体成分のいずれかを螢光発色させることにより、幾類の異なる血球間及び血球と周囲の液体間の識別が極めて容易になる。このように血液試料の流し方、溝入口の形状、測定方式を工夫することにより、径のより大きい血球あるいは有形成分の流入を防ぎながら、測定対象血球細胞による溝閉塞を含めた溝通過能を選択的に測定することが可能になる。また、赤血球、白血球、血小板にそれぞれ適合した3種類の溝回路網および測定方式を並列配置し、

- 13 -

それぞれに血液試料を上記の方式で流すことにより、該血液試料中の赤血球、白血球、血小板に対しても同時にかつ迅速に測定することも可能となる。

上記の血液試料の流し方は、他方で生理活性物質の濃度差のみによる特定の血球相胞の遊走を測定することを可能にしている。即ち、溝入口側と出口側の間に静水圧差に代えて生理活性物質の濃度差を設けることにより、その生理活性物質の濃度差を認識できる血球相胞のみが溝内に遊走してくる。その個数、通過時間を測定すれば上記目的を達成し得ることになる。

また、狭窄部を同一の溝内に多段に設けることによって、そこを通過して行く血球の追跡が可能になるだけでなく、その通過過程で生じる変化をも同時に追跡して行くことができる。

異なる溝回路網の間の血液各有形成分の記分の仕方、同一回路網内での血液各有形成分の分布状況は従来なかった新しい指標となる。

血液回路を流れる血液若しくはその成分は出口端で回収され、必要に応じて元に戻される。ある

いは、別の測定系に運ばれる。

#### (実施例)

以下、本発明構成を図面に示す実施例に基づいて詳細に説明する。第1図に本発明の血液測定装置の構成を概略的に示す。本装置は、血球を通過せしめる3種類の血液回路1、2、3と、各回路1、2、3の溝を通過する血球の大きさと通過速度を測定する測定装置26、27、28及びそれら測定値を信号処理しその数値分布を表示する装置39、40と、血液試料を各回路1、2、3に供給する給液路31と、給液路31へ血液試料を注入する装置4と、送液ポンプ5、6と、給液路31、32内の液圧を測定する圧力測定装置13、14、15、16、17、18と、流路抵抗可変装置19、20、21、22、23、24と、上述の送液ポンプ5、6や圧力測定装置13、…、18、流路抵抗可変装置19、…、24を制御する制御部25と、血液回路通過後の血液を回収する回収タンク33、34、35、36、37、38、各流路31の中において蛍光物質あるいは

— 16 —

生理活性物質を添加混合する装置7、8、9、10、11、12から主に構成されており、赤血球変形能測定、白血球活性度測定及び血小板凝集能測定を同時に実施できる。尚、本実施例では、赤血球変形能測定用、白血球活性度測定用及び血小板凝集能測定用の3種類の血液回路1、2、3を別個に形成しているものを使用しているが、これに特に限定されるものではなく、場合によっては1つの基板に上述の3種類あるいはその他の測定用の血液回路を形成したものを使用することも可能である。この場合、給液路31、32や、圧力測定装置13、…、18、回収タンク33、…、38などの付属設備を共用できる。

該装置において、血液試料は注入装置4により給液路31内に入れられ、送液ポンプ5からの液体に乗って各回路1、2、3まで送られる。給液路31内の液体の圧力は各回路1、2、3の直前で圧力測定装置13、15、17によって測定される。血液試料は各回路1、2、3内の血液流路を溝入口面に沿って流れた後、流路抵抗可変装置

19、21、23を通り回収される。一方、各回路1、2、3内の別の流路には給液路32及び送液ポンプ6を経て生理食塩液が流れ、溝出口面に沿って流れられる。この給液路32内の液体の圧力も各回路1、2、3の入口近傍の圧力測定装置14、15、18によって測定される。そして、回路入口側と出口側の圧力を測定値を元に送液ポンプ5、6及び流路抵抗可変装置19、20、…、24が制御部25において制御され、溝入口面と出口面の間に所定の静水圧差が設定される。それにより血液試料の一端は溝5を通過し、測定に供されることになる。各回路1、2、3に至るまでに血液試料には必要に応じて蛍光物質、生理活性物質が加えられる。各回路1、2、3の溝を通過する血球相胞は測定装置26、27、28の顯微鏡拡大投影面上に投影され、その大きさおよび溝通過速度が計測される。必要に応じて蛍光法で観察が行なわれる。また、生理活性物質の拡散を溝出口側から入口側へも起こし得るように、溝出口側を流れる生理食塩液にも必要に応じて生理活

— 17 —

— 18 —

性物質が加えられる。各添加装置 7, 8, …, 12 の下流の螺旋状の流路 47, 48, 49, 50, 51, 52 は添加物質の混合を確実にするためのものである。各回路 1, 2, 3 の入口側と出口側の圧力測定装置 13, 14, …, 18 の出力は制御部 25 に送られ、その測定値に基づいて流路抵抗可変装置 19, 20, …, 24 に制御部 25 から制御信号が送出される。

尚、制御部 25 としては、一般に公知のコンピュータが採用が好ましい。

第2図(a)および(b)にそれぞれ本発明の血液回路の構成の一例を示す。表面に流路や溝を構成する溝みや溝を有する第1の基板 60 と、この第1の基板 60 の表面に接合される平面を有する第2の基板 61 とから少なくとも構成されている。第2図(c)に示される実施例は、第1の基板 60 に互いに平行な2つの複数の溝み 62, 63 を設け、それら溝み 62, 63 の間を区画する壁部 64 に各種溝み 62, 63 とで形成される流路とはほぼ直交する方向の溝 65 を設けたものである。

- 19 -

試料の流れを、また符号 51 は生理食塩水の流れを示す。

このような形状を有する第1の基板 60 としては、特に限定されるものではないが、被細加工が容易でかつ血液に対し比較的不活性なシリコン単結晶により構成されるものが最も多く用いられる。このシリコン単結晶板に半導体製造で使用されるエッチャリングやホトリソグラフィ等によって上述の溝み 62, 63 や溝 65 等が形成される。

この第1の基板 60 上には直接面が平面となされた第2の基板 61 が接合しないし圧着され、この第1の基板 60 と第2の基板 61 の接合部ないし圧着部に上記溝み 62, 63 及び溝 65 によって生じる空間で流路が形成されている。尚、この第2の基板 61 は流路を通過する血球の光学的な観察が行ない易いように透明なものであることが望ましく、例えばバイレックスガラス等が用いられる。

第3図(a)～(d)に、各直液回路 1, 2, 3 の溝 65 を通過する血球の大きさと通過速度を

溝み 62, 63 はその両端に流入口 66 と流出口 67 を夫々設け、流入口 66 から液体を導入して溝み 62 あるいは 63 を通し流出口 67 から排出されるように設けられている。流入口 66 及び流出口 67 は第1の基板 60 の厚み方向に貫通しており、第1回の血液測定装置の給液路 31 若しくは 32 に連結される。例えば、第2図(d)に示すように、第1の基板 60 の下にベース板 68 を接合しないし圧着し、該ベース板 68 に給液路 31 若しくは 32 を接続する引き出し溝路 69, 70 を形成している。

また、第2図(b)に示される実施例は第1の基板 60 に直液試料を含む液体を流す1本の溝み 62 と血液試料を含まない液体を流す2本の溝み 63 を互いに平行に設けたものである。この各溝み 62, 63 を互いに区画する壁部 64 には第2回(c)に拡大して示すように、微細な溝 65 が溝み 62, 63 における流路と略直交方向に多数設けられている。尚、第2図(c)及び(d)において符号 50 はこれらの血液回路における血液

- 20 -

顕微鏡拡大投影面上で計測する方式の一例を示す。この計測方式は、フォトセンサーを用いたもので、顕微鏡拡大投影面上の壁部 64 の溝 65 の入口側及び出口側に相当する部位に貼らないシバターンニングされたフォトセルあるいは光電面の開口部を有するフォトマルティプライヤなどのフォトセンサー 71, 72 で検出する光量の変化を利用して血球 73 の大きさと通過速度を測定するものである。第3図(a)の実施例は血球 73 に取り込まれない螢光物質を加えて液体成分 74 を発光させ、血球 73 を暗部として観測するようにしたものである。その時の血球通過に伴うフォトセンサー 71, 72 の出力の変化を第3図(b)に示す。第3図(c)に示す実施例は血球 73 に取り込まれる螢光物質を加えて血球 73 自体を発光させ、血球を明部として観測するようにしたものである。その時の血球通過に伴うフォトセンサー 71, 72 の出力の変化を第3図(d)に示す。いずれの場合もフォトセンサー 71, 72 に流れる電流のピークの高さ V が血球の大きさを示し、ビ

- 21 -

- 22 -

ークの間隔 T が通過時間を示す。フォトセンサー 1, 2 の距離 (距離) は一定であるため、ピークからピークまでの時間 T から血球の通過速度を求めることができる。また、溝 6.5 の入口で血球 7.3 は変形する。その時間のため溝入口溝 7.5 では出口側 7.6 と比べてピークの幅が広がることになる。従って、ピークの幅の差 D - D' が変形に要する時間を表すことになる。このようにして通過時間から血球 7.3 の変形時間を分離して求めることも可能になる。

第 4 図 (a) ~ (c) に血液回路の溝の一例を示す。以下に、これらの特性が如何に分離されて測定されるかについて述べる。血液試料中の赤血球、白血球、血小板は一様に各溝の入口側に到達するが、溝入口の所で溝に入れるものと入れないものが分けられる。第 4 図 (a) に赤血球変形能測定用の溝 6.5 の一例を示す。この溝 6.5 は、底盤な V 字型の溝 7.7 A の前後に深さ 4 μm、幅 1.0 mm の矩形状の溝から成る入口側溝 7.5 A、出口側溝 7.6 A が設けられている。そのため、直径が 8

- 23 -

トグラムが 3 次元化されることによって、従来形態の異常のみを 2 次元的に検出していた場合と比較して、より高度な判定が可能となる。通常の照明、顕微鏡観察では赤血球 7.3 A と周囲の液体 7.4 との区別が明確にならない場合、蛍光法での觀察が行なわれる。その際、赤血球 7.3 A を蛍光物質で標識するのは手間がかかり、赤血球変形能にも悪影響が及ぶので、第 3 図 (a) に示すように、液体成分 7.4 を蛍光染色させ、赤血球 7.3 A は影あるいは暗部として観察する方法を用いる。

第 4 図 (b) に、白血球活性度を測定するための溝の一実施例を示す。この白血球活性度測定用溝では V 字型の溝 7.7 B 及びその前後の台形状の入口側溝 7.5 B、出口側溝 7.6 B の寸法が大きく、例えば溝の深さは 1.0 μm となっている。白血球 7.3 B は入口側溝 7.5 B に入り、次に変形して V 形溝 7.7 B を通過する。白血球 7.3 B の大きさ、通過速度の測定表示方法は赤血球 7.3 A の場合と同様である。赤血球 7.3 A はこの溝 7.5 B、7.7 B、7.6 B を自由に通過するが、白血球の通過を障害

し、厚さが 2 μm の円盤状の赤血球 7.3 A はこの入口側溝 7.5 A に入れるが、直径が 6 ~ 10 μm の球状の白血球 7.3 B はこの溝 7.5 A に入ることができない。したがって、白血球 7.3 B は溝と直交する血液試料の主流に流されて溝 7.5 A から逃げたりする事がない。矩形状の入口側溝 7.5 A に入ることにより配向した赤血球 7.3 A は次に変形して V 字型の溝 7.7 A を通過する。その通過速度は赤血球 7.3 A の変形能に比例すると考えて良く、前者は後者の適切な指標となる。また、赤血球の大きさは矩形状の入口側溝 7.5 A、出口側溝 7.6 A を通過中の配向した赤血球の円盤面の投影像から正確に求められる。個々の赤血球 7.3 A について得られるこれらの測定値から、赤血球 7.3 A の大きさ、通過速度をそれぞれ X、Y 軸に取り、それらに対する頻度を Z 軸に取ることによって、赤血球の機能特性およびその分布が 3 次元的に表示される。第 7 図はこのような血球細胞の大きさと、通過時間のヒストグラムの 3 次元表示例である。このように血球細胞の大きさと速度のヒス

- 24 -

することはない。白血球 7.3 B と赤血球 7.3 A の識別は容易であるが、さらに区別を明確にする目的で、螢光法での観察が行なわれる。白血球 7.3 B はアクリジンオレンジ、アクリジンレッド等の色素で容易に螢光染色され、第 3 図 (c) のように明確として観察される。白血球 7.3 B が生理活性物質により刺激を受け、能動的な細胞運動を開始するようになると、溝通過速度は著しく低下する。これは外力と細胞内力が拮抗するようになるためである。第 5 図 (a) 及び (b) は、この白血球 7.3 B の溝通過能の変化を模式的に示す。この溝通過能およびその変化で白血球の活性度が定量化される。溝 6.5 の入口側と出口側の間に静水圧差を設けず、代りに生理活性物質の濃度差を設けると、白血球 7.3 B は遊走を開始し、溝 6.5 を能動的に通過するようになる。このような条件下での溝 6.5 を通過する白血球の数、通過速度も白血球活性度の指標となる。

第 4 図 (c) に血小板凝集能測定用の溝の一実施例を示す。この溝では血小板の直径約 3 μm に合

- 25 -

った寸法の入口開溝 7.5°C、V 形溝 7.7°C、出口側溝 7.6°C が設けられている。入口開溝 7.5°C 内に赤血球 7.3A、白血球 7.3B は入ることができず、血小板 7.3C のみが通過していく [ 第5図 (c) ]。生理活性物質により血小板 7.3C の叢集が引き起こされると、第5図 (d) に示されるように溝通過が困難になる。血小板叢集塊の大きさと溝通過速度が血小板叢集能の良い指標となる。

第6図は同一溝内に V 字型の溝 7.7D、7.7E を多段に設けた構造を示す。溝 6.5 を通過していく個々の血球に対して各段の V 字型の溝 7.7D、7.7E の通過速度が計測される。入口開溝 7.5D と中間溝 7.8D とに次々配置されたフォトセンサー（図示省略）によって求められる 1 段目の溝 7.7D の通過速度を基準に取ることにより、中間溝 7.8D と出口開溝 7.6D のフォトセンサー（図示省略）によって求められる次段の V 形溝 7.7E の通過速度との関係から各段の通過速度の変化が求まる。この変化はそれまでの溝通過即ち変形が血球の機能特性に及ぼす影響を反映する。

- 27 -

り、各種の疾患で血液の形態学的な像が変化するのは症状がかなり進行した後であるのに対し、血液の機能的変化は早期に出現する可能性が高い。また、血液の機能的変化は病態の差を強く反映するものと予想される。

従って、本発明の装置は各種疾患の早期診断、精密診断に貢献する。

#### 4. 四面の簡単な説明

第1図は本発明の装置の構成を示す図である。

第2図 (a)、(b) は本発明の血液回路を構成する第1の基板の構成の一例を示す図、第2図 (c) は第2図 (a)、(b) の A 部を拡大した図、第2図 (d) は血液回路として組立てた実施例を示す断面図である。

第3図 (a)～(d) は溝を通過する血球の大きさと通過時間を求める方式を示す図。第3図 (a) は血液回路内の溝を通過していく血球を周囲の液体を蛍光発光させて観測した図、第3図 (b) はその時のフォトセンサーの出力の変化を示す図、第3図 (c) は血液回路内の溝を通過し

尚、上記各実施例においては、赤血球、白血球および血小板に対する溝の形状、深さ、大きさに関するそれぞれ 1 つずつ具体例を提示したにすぎないが、これらの溝の形状は各血球細胞の形状、薦定目的等に応じて種々変更可能である。また、複数種の血液回路をそれぞれ別々の基板に構成することも、1 つの基板の中に構成することも可能である。

#### （発明の効果）

本発明は、以上説明したように構成されるために、

(1) 血液試料から各血球分画を分離することなく、迅速に赤血球の大きさと形態能の度数分布、白血球の大きさと活性度あるいは刺激に対する応答の度合の度数分布、血小板の大きさと叢集能あるいは叢集塊の度数分布を測定することができ、

(2) また、従来の血液儀は、血液中の各血球の数とその大きさの分布の計測値に過ぎず、形態学的な血液儀であるのに対し、本発明の装置は、各血球の機能即ち血液の機能儀を与えるものであ

- 28 -

ていく血球を血球を蛍光発光させて観測した図、第3図 (d) はその時のフォトセンサーの出力の変化を示す図である。

第4図 (a) は赤血球変形能測定用溝の形状の一例を示す図、第4図 (b) は白血球活性度測定用溝の形状の一例を示す図、第4図 (c) は血小板叢集能測定用溝を示す図である。

第5図 (a) 及び (b) は白血球の活性と溝通過能の関係を模式的に示す図、第5図 (c) 及び (d) は血小板の叢集と溝通過能の関係を模式的に示す図である。

第6図は同一溝内に多段に狭隘部を設けた溝を示す図である。

第7図は各血球の大きさと溝通過時間のヒストグラムの表示例を示す図である。

1 … 赤血球変形能測定用血液回路、

2 … 白血球活性度測定用血液回路、

3 … 血小板叢集能測定用血液回路、

6 0 … 第1の基板、

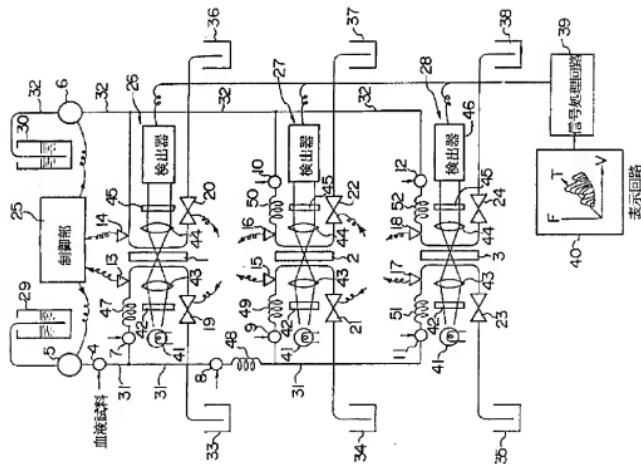
- 29 -

6 1 … 第 2 の基板、  
 6 2 , 6 3 … 罫み、  
 6 4 … 壁部、  
 6 5 … 清、  
 75A, 75B, 75C, 75D … 入口箇溝、  
 76A, 76B, 76C, 76D … 出口箇溝、  
 77A, 77B, 77C, 77D … V 字形溝、  
 78E … 中間溝、  
 7 3 … 直線、  
 73A … 弯曲線、  
 73B … 白血球、  
 73C … 直小板、  
 7 4 … 液体成分、

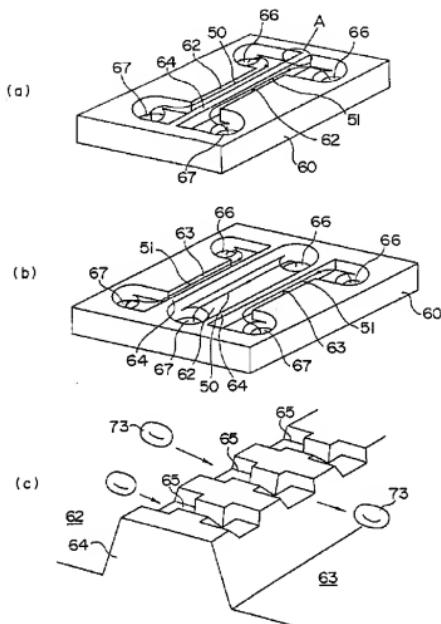
特許出願人 菊池佑二  
代理人 弁理士 高木千尋  
(外2名)

- 31 -

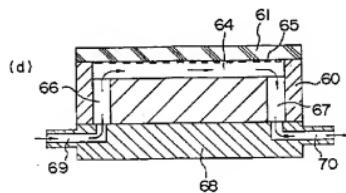
1



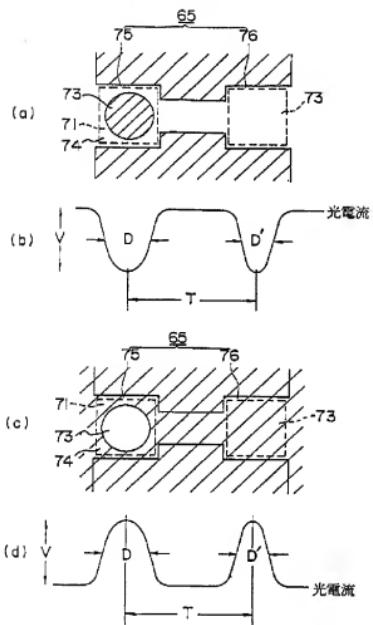
第 2 図



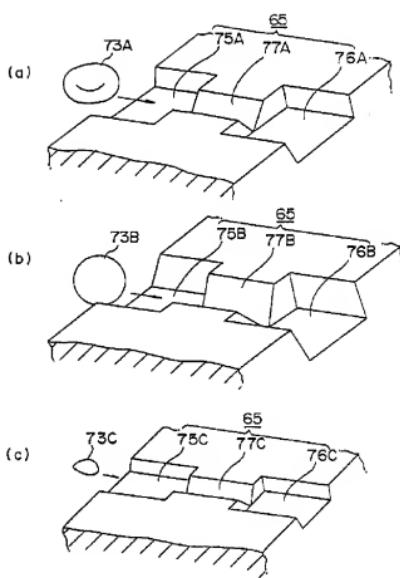
第 2 図



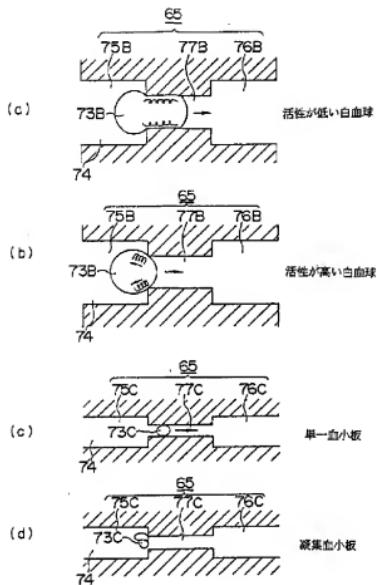
第 3 図



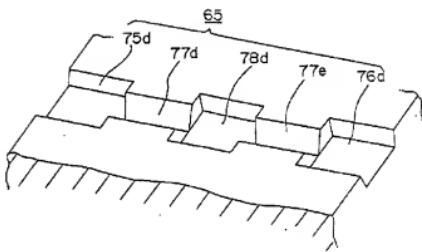
第 4 図



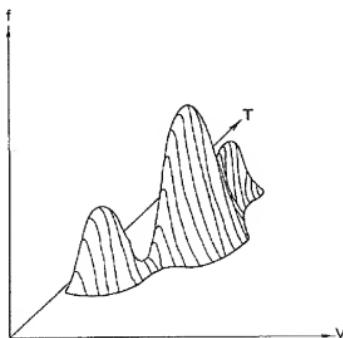
第 5 図



第 6 図



第 7 図



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成7年(1995)7月18日

【公開番号】特開平3-257366

【公開日】平成3年(1991)11月15日

【年通号数】公開特許公報3-2574

【出願番号】特願平2-55037

【国際特許分類第6版】

G01N 33/49 A 7055-23

X 7055-23

// A61M 1/14 535 9052-4C

## 手 続 様 正 常

平成6年8月5日

特許庁長官 高島 実 魁

## 7. 補正の内容

1) 特許請求の範囲を別紙のとおり補正します。

2) 図面第2~6図を別紙添付の第2~6図のとおり補正します。

以 上

## 1. 事件の要承

平成2年特許権第55037号

## 2. 発明の名称

血液固結及びこれを用いた血液測定装置及び血液測定方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都千代田区麹町3丁目108-402

氏名 久 他 佑 二

## 4. 代理 人

住所 東京都千代田区麹町一丁目10番地(麹町会議ビル)

電話 (0361) 2022

氏名 (173) 高 木 千 麻 三

(2名)

## 5. 補正命令の日付 (自免)

## 6. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の消去及び図面



## 2. 特許請求の範囲

- 1) 一端部に流入口を有し、他端部に流出口を有する溝を複数個並列配置し、且つこの溝が相互を区隔する壁間に、前記流入口と流出口とは特に直角に設けられ、複数個の溝を連通する最小の溝をしてなる第1の基板と上記第1の基板の裏面に複数個の溝を有する平面を有する第2の基板とかなり、上記第1の基板と第2の基板の接合部ないし接合部に上記溝および溝によって形成される空間を流路として有することを特徴とする血液回路。
- 2) 前記構造の溝、溝あるいは形狀のいずれかあるいは全てを赤血球、白血球あるいは血小板のいずれかの大きさと形状に合わせることにより、この溝により形成される流路の各血管に対する遮断程度を異なるしめる、もしくはこの溝により形成される流路を溝である血流を遮断することを特徴とする請求項1記載の血液回路。
- 3) 赤血球、白血球および血小板にそれそれぞれ適合した3種類の溝のうち複数種が配置されているものである請求項1記載の血液回路。
- 4) 脳内には流路部が多段に設けられていることを特徴とする請求項1ないし3のいずれかに記載の血液回路。
- 5) 上記第2の基板が透明であることを特徴とする請求項1ないし4のいずれかに記載の血液回路。
- 6) 上記第1の基板がシリコン樹脂品からなることを特徴とする請求項1ないし5のいずれかに記載の血液回路。
- 7) 請求項1ないし6のいずれかに記載の血液回路の1つの溝の流入口に血液注入装置を接続し、この溝と並列配置された溝

の流入口に生理食塩水注入装置を接続し、さらに各溝の流入口近傍、流出口近傍あるいはその両方に制御装置を有する圧力発生器を設けたことを特徴とする血液測定装置。

8) 並列配置された溝の間を通過する溝により形成される流路部に光を照射する光学系と、該流路部から反射される光ないし該流路部から反射される光の変動を測定する計測系とを有するものである請求項7記載の血液測定装置。

9) 請求項1ないし8のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、血液回路の並列する溝の間に静水圧差を設けることにより、上記並列する溝の間を横ぐれにより形成される流路を介して白血球の移動を起こらしめ、その後の各溝での白血球各分画の数の増減あるいは白血球の各形成分による流路の閉塞状況を測定し、それにより白血球の各形成分の流れ特性あるいは活性度を求めることを特徴とする血液測定装置。

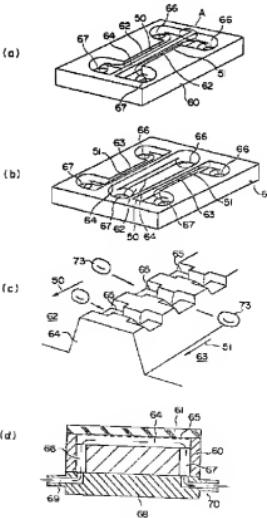
10) 請求項1ないし8のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、血液回路の並列する溝の間に生理活性物質の濃度差を設けることにより、上記並列する溝の間を横ぐれにより形成される流路を介して白血球の移動を起こらしめ、その後の各溝での白血球各分画の数の増減あるいは白血球による流路の閉塞状況を測定し、それにより白血球各分画の活性度、粘着性を求めてることを特徴とする血液測定装置。

11) 請求項1ないし8のいずれかに記載の血液回路あるいは血液測定装置において、該請求項または10に記載の血液測定装置、生理活性物質に暴露後の血漿試料に対して行なうことを特徴とする血液測定

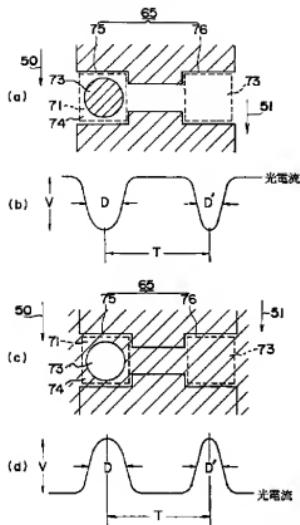
方法。

- 12) 請求項目または10に記載の血液測定装置、質点装置で各白血球細胞もしくは液体成分のいずれかを蛍光染色させて行なうことを特徴とする血液測定方法。

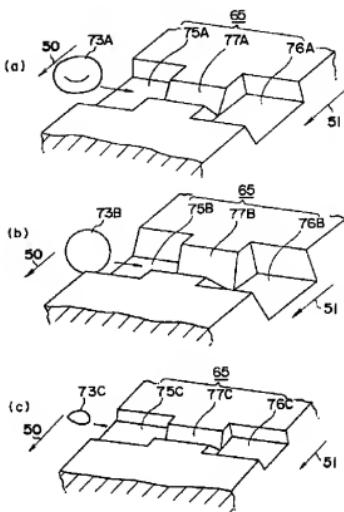
第2 図



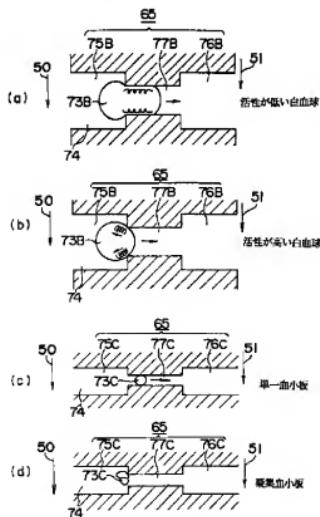
第3図



第4図



第5図



第6図

